

学校编码: 10384

学号: 24520131153560

分类号_____密级_____

UDC_____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

HUVECs 通过 FAM3B 促进 iPS-MSCs 的增殖

HUVECs Promote the Proliferation of iPS-MSCs by
FAM3B

冷 云

指导教师姓名: 齐忠权 教授

专 业 名 称: 药理学

论文提交日期: 2016 年 5 月

论文答辩时间: 2016 年 5 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 5 月

HUVECs 通过 FAM3B 促进 iPS-MSCs 的增殖

冷云

指导教师

齐忠权
教授

厦门大学

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(干细胞与移植免疫)课题(组)的研究成果,获得(齐忠权 教授)课题(组)经费或实验室的资助,在(厦门大学福建省器官与组织再生重点实验室)完成。

声明人(签名):

2016 年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘要	VII
Abstract	VIII
第一章 前言	2
1.1 间充质干细胞	2
1.1.1 干细胞概述.....	2
1.1.2 间充质干细胞概述.....	2
1.2 FAM3B 概述	6
1.2.1 FAM3 家族简介	6
1.2.2 FAM3B 的生物学功能研究.....	7
1.3 研究目的、内容和研究意义	9
1.3.1 研究目的.....	9
1.3.2 研究意义.....	9
1.3.3 研究内容.....	10
第二章 材料与方法	11
2.1 实验材料.....	11
2.1.1 实验细胞.....	11
2.1.2 主要试剂.....	12
2.1.3 主要仪器.....	14
2.2 实验方法.....	16
2.2.1 细胞培养.....	16
2.2.2 iPS-MSCs 鉴定	17
2.2.3 BrdU 掺入实验.....	20
2.2.4 RayBio®基于生物素化探针的人抗体芯片	20
2.2.5 RNA 提取	24
2.2.6 实时定量荧光 PCR	24
2.2.7 蛋白提取.....	25

2.2.8 免疫印迹.....	26
2.2.9 人 iPS-MSCs 的间充质干细胞分化实验.....	27
2.2.10 RNA 干扰	30
2.2.11 统计学分析.....	37
第三章 结果与讨论	38
3.1 HUVECs 促进 iPS-MSCs 的增殖.....	38
3.2 iPS-MSCs 和 HUVECs 的细胞上清液可溶性因子分析.....	40
3.3 FAM3B 促进 iPS-MSCs 的增殖和分化	42
3.4 HUVECs 通过 FAM3B 促进 iPS-MSCs 的增殖	44
3.5 FAM3B 上调 Nanog 在 iPS-MSCs 中的表达	45
3.6 讨论.....	47
第四章 结论与展望	49
4.1 结论.....	49
4.2 展望.....	49
参考文献	51
附录	62
附录一：图表索引	62
附录二：抗体芯片检测的 276 个差异表达蛋白	64
附录三：缩略语及中引文对照	65
致谢	67

Table of Contents

Abstract in Chinese	VII
Abstract in English	VIII
Chapter 1 Introduction.....	2
1.1 Mesenchymal stem cell	2
1.1.1 Summary of stem cells.....	2
1.1.2 Summary of mesenchymal stem cells.....	2
1.2 Summary of FAM3B	6
1.2.1 Introduction of FAM3 family.....	6
1.2.2 Biological function research of FAM3B.....	7
1.3 Purpose, significance and contents	9
1.3.1 Research objective	9
1.3.2 Research significance.....	9
1.3.3 Research contents.....	10
Chapter 2 Materials and Methods	11
2.1 Materials	11
2.1.1 Cells used in this article	11
2.1.2 Main reagents.....	12
2.1.3 Main instruments	14
2.2 Methods.....	16
2.2.1 Cell culture.....	16
2.2.2 Identification of iPS-MSCs.....	17
2.2.3 BrdU incorporation assay	20
2.2.4 RayBio® Human Label-based Antibody Array	20
2.2.5 RNA extraction	24
2.2.6 Real-time PCR	24
2.2.7 Protein extraction	25

2.2.8 Western blot	26
2.2.9 Identification of human iPS-MSCs	27
2.2.10 RNAi	30
2.2.11 Statistical analysis	37
Chapter 3 Results and Discussion	38
3.1 HUVECs promote the proliferation of iPS-MSCs	38
3.2 Soluble factors analysis of supernatant from HUVECs and iPS-MSCs	40
3.3 FAM3B promotes iPS-MSCs proliferation and differentiation	42
3.4 HUVECs promote the proliferation of iPS-MSCs via FAM3B	44
3.5 FAM3B up-regulates Nanog expression in iPS-MSCs	45
3.6 Discussion	47
Chapter 4 Conclusion and Prospect	49
4.1 Conclusion	49
4.2 Prospect	49
Reference	51
Appendices	62
Chart index	62
抗体芯片检测的 276 个差异表达蛋白	64
Abbreviations	65
Acknowledgments	67

摘要

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)存在于一个血管周微环境中, 在这个微环境内, 内皮细胞(endothelial cells, ECs)与 MSCs 互相作用, 调控 MSCs 的表型和增殖, 从而在 MSCs 的血管生成作用和治疗应用方面起重要作用。然而, MSCs 受到来源、年龄、健康等多方面的影响, 不能满足大规模的使用需求。诱导多能干细胞来源的间充质干细胞(induced pluripotent stem cell-derived MSCs, iPS-MSCs)可能会是一个有前景的替代性干细胞来源。但是, ECs 是否也可以调控 iPS-MSCs 仍未可知。因此我们将人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein ECs, HUVECs)与 iPS-MSCs 共培养, 研究二者之间的相互作用, 发现与 HUVECs 共培养可以促进 iPS-MSCs 中 BrdU 的掺入。HUVECs 的上清也可以促进 iPS-MSCs 的增殖, 这表明 HUVECs 可能以旁分泌的形式调控 iPS-MSCs。与之相反的是, iPS-MSC 并不会影响 HUVECs 的增殖。因此, 我们用抗体芯片检测了 iPS-MSCs 和 HUVECs 的旁分泌因子, 并且通过 PCR 和 Western blot 证实了 FAM3B 是 HUVECs-MSC 信号转导介质中的一员。我们进一步发现 FAM3B 以剂量依赖的形式促进了 iPS-MSCs 的增殖, 并且用 siRNA 敲减掉 HUVECs 的 FAM3B 可以降低共培养时 iPS-MSCs 中 BrdU 的掺入。除此以外, FAM3B 可以促进 iPS-MSCs 的成脂分化和成骨分化。尤其特别的是, FAM3B 上调了 iPS-MSCs 中 Nanog 在 mRNA 和蛋白水平的表达, 但并不会上调 OCT4 的表达。这些数据表明 FAM3B 对 iPS-MSCs 的增殖有明确的促进作用。因此, iPS-MSCs 与 HUVECs 之间的相互作用和 MSCs 与 HUVECs 之间的相互作用是类似的。HUVECs 通过分泌 FAM3B 调控 iPS-MSCs, 这也许给我们带来了血管周微环境的新研究方向。

关键词: 诱导多能干细胞来源的间充质干细胞; FAM3B; 人脐静脉内皮细胞

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) reside in a perivascular niche, communicating with endothelial cells (ECs) to modulate MSC phenotype and proliferation and this may be important for angiogenesis and therapeutic applications. Induced pluripotent stem cell-derived MSCs (iPS-MSCs) may be a promising alternative stem cell source but whether ECs can modulate them is unknown. Thus, we studied the communication between human umbilical vein ECs (HUVECs) and iPS-MSCs in co-culture and noted increased BrdU incorporation into iPS-MSCs. HUVECs supernatant also induced proliferation of iPS-MSCs, suggesting a paracrine effect of HUVECs on iPS-MSCs. In contrast, iPS-MSCs did not affect HUVECs proliferation. Therefore, we measured paracrine factors from iPS-MSCs and HUVECs with an antibody array and identified *FAM3B* as a candidate HUVECs-MSCs signaling mediator. This was validated with PCR and Western blot. *FAM3B* induced proliferation of iPS-MSCs in a dose-dependent manner and knockdown of *FAM3B* in HUVECs reduced BrdU incorporation of iPS-MSCs in co-culture. Also, treatment with *FAM3B* accelerated adipogenic and osteogenic differentiation of iPS-MSCs. In particular, administration of *FAM3B* to iPS-MSCs enhanced *Nanog* but not *OCT4* mRNA and protein expression. These data suggested that iPS-MSCs proliferation is positively influenced by *FAM3B* and that iPS-MSCs function in a manner similar to MSCs with respect to crosstalk with HUVECs. Thus, iPS-MSCs, modulated via *FAM3B* secreted by HUVECs, may represent a perivascular niche of study.

Key words: iPS-MSCs; FAM3B; HUVECs

第一章 前言

1.1 间充质干细胞

1.1.1 干细胞概述

干细胞 (stem cells, SCs) 是一种具有无限增殖潜能的特殊细胞, 也就是说, SCs 可以进行自我更新和分化, 它几乎存在于机体的各种组织和器官中。干细胞这个单词第一次被使用是在 1908 年一位俄国的组织学家 Alexander Maksimova 在研究中提到了造血干细胞 (haematopoietic stem cells, HSCs)。SCs 由于其自我更新和巨大的增殖潜能, 成为世界各地的众多研究的主题。这些研究为改善预后和优化多种疾病的治疗方法带来了希望^[1]。

根据发生来源, 干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞两类。成体干细胞是存在于已经分化组织中的未分化细胞, 能够自我更新并特化形成该类型组织的多能细胞。根据发生学的来源不同, 干细胞可分为胚胎干细胞、成体干细胞和诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC)。根据细胞来源部位的不同可分为骨髓来源干细胞 (bone marrow derived stem cell)、外周血来源干细胞、脂肪来源干细胞、脐带来源干细胞等; 依据分化特征的不同, 可以分为间充质干细胞、造血干细胞、内皮祖细胞等。成体干细胞由于其获得的便捷性、分化方向的特定性、以及疗效的安全性成为目前用于临床的最具代表性的干细胞。本文对间充质干细胞的分类做简要介绍。

1.1.2 间充质干细胞概述

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是一类具有自我更新能力并且可以向多种组织细胞分化的多能干细胞, 在特定情况下, 能够被诱导分化为成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、内皮细胞等等。MSCs 是目前倍受关注的一类成体干细胞, 广泛分布于人体各种不同的组织, 包括骨髓、外周血、脐带血、脐带静脉内皮下层、肌腱、骨膜、牙胚、脂肪、嗅粘膜、胎肺和胎肾等组织中。此外, MSCs 还具有组织修复能力, 目前被大规模运用于临床细胞治疗的前期研究、组织工程等。因此, 在再生医学领域, MSCs 被认为具有广阔的应用

前景,它被期望能够用于治疗帕金森疾病、神经退行性疾病等。但是,由于 MSCs 受到来源、年龄、健康等多方面的影响,并不能满足临床的大规模使用。

目前,骨髓是 MSCs 最主要的来源, MSCs 占整个骨髓细胞群的 0.01% 左右^[2-4]。MSCs 的鉴定涉及到细胞表型的特异性标记,但目前尚未发现 MSCs 的特异性表面标志物。通常通过监测一系列的分子指标来对 MSCs 鉴定。流式细胞仪分析显示, MSCs 表达多种特异性抗原、细胞因子、生长因子受体、粘附相关分子及胞外基质。MSCs 表达的特异性抗原有: SH2、SH3、SH4、CD29、CD44、CD71、CD90、CD106、CD120a、CD124、STRO-1、CD105、CD117 (c-kit)、 α -smooth muscle actin 和 MAB1740 等^[5]。

1.1.2.1 间充质干细胞的免疫治疗

随着人们对 MSCs 生物学理解不断加深,使得 MSCs 已经获得批准作为免疫调节药物用于临床治疗诸如移植物抗宿主疾病、器官移植、糖尿病、多发性硬化以及克罗恩氏等疾病。迄今,有超过 400 项针对 MSCs 治疗作用的研究已经注册到临床试验数据库(www.clinicaltrials.gov)^[6]。

在二期临床试验研究中, Le Blanc 等将同种异体的骨髓来源间充质干细胞 (BM-MSCs) 移植到排斥等级为 2-4 级的 55 个移植物抗宿主病人体内,有 30 个病人症状完全缓解,9 个病人部分缓解。值得一提的是,与那些部分缓解或者没有缓解的病人相比较,完全缓解的病人整体死亡率以及移植死亡率显著降低,并且在 MSCs 移植后没有出现副作用^[7]。在另一个利用 MSCs 治疗急性 GvHD 疾病 (10 个) 以及慢性 GvHD (8 个) 疾病的 I/II 期临床试验中,有一个急性 GvHD 病人以及一个慢性 GvHD 病人达到了完全缓解的效果;6 个急性 GvHD 病人及 3 个慢性 GvHD 病人达到部分缓解效果,并且 MSCs 治疗后没有观察到副作用^[8]。在同种异体干细胞移植治疗儿童慢性 GvHD 病人中, BM-MSCs 移植后,三个病人中有一个得到轻度的改善^[9]。诸多其他临床试验也都表明同种异体 BM-MSCs 移植有助于 GvHD 的治疗^[10-14]。近期,加拿大卫生部已准许将 MSCs 临床应用于 GvHD 病人。

一期及二期临床试验评估了 MSCs 在多发性硬化病人中的应用^[15-18]。在一个 I/II 期开放安全性临床试验中, Karussis 等表明,向多发性硬化患者及肌萎缩性

骨髓侧索硬化症患者移植 MSCs 能够立即产生免疫调节作用,该移植是一个安全的、临床可行的方案^[17]。另一个非盲 I 期试验表明,同种自体 MSCs 治疗继发型多发性硬化疾病能够改善视敏度以及视觉诱发响应延迟,而没有严重的副作用^[16]。

此外,人们在肾移植、系统性红斑狼疮^[19-21]、糖尿病^[22]、克罗恩病^[23, 24]、溃疡性结肠炎和骨关节炎患者中^[25],进行了 MSCs 移植的治疗效果的调查。其中最引人注意的是,Perico 等人的研究表明,移植前注入自体的 MSCs 可以防止移植后的肾脏功能障碍^[26]。所有研究(一个克罗恩病中的除外)均表现出 MSCs 治疗在临床上的一些优势^[24]。基于这些最初的令人鼓舞的结果,进一步的调查正在进行中,以提高 MSCs 治疗的安全性和有效性。

Mohamadnejad 以及 Kharazika 等研究小组在临床 I 期实验中分别成功地研究了肝功能衰竭和肝硬化疾病^[27, 28]。移植自体 MSCs 显著地提升了病人的生存质量和肝功能。另外两个临床 II 期试验同样表明在肝衰竭病人中,移植 MSCs 增加病人血清白蛋白,降低血清胆红素,提高梅奥终末期肝病得分(Mayo End-Stage Liver disease score)^[29, 30]。

1.1.2.2 间充质干细胞免疫调节机制

研究表明,间充质干细胞对 T 淋巴细胞反应、B 淋巴细胞反应、自然杀伤细胞反应、抗原呈递细胞等均表现出免疫抑制效果。目前已证明, MSCs 通过分泌多种因子发挥免疫调节作用,其中包括 TNF- α 、TGF- β 1、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE-2)、MCP-1、IL-10、IDO 和一氧化氮(nitric oxide, NO)等^[31-33]。

诱导 T 细胞向调节性 T 细胞(Tregs)分化是 MSCs 抑制 T 细胞反应的另一种机制。转录因子 Foxp3 被认为是小鼠调节性 T 细胞的标志,在调节性 T 细胞的发育、维持和功能方面起到重要作用^[34, 35]。体内体外实验研究均表明 MSCs 可以诱导 T 细胞向 Tregs 分化。将人 MSCs 与外周血单核细胞(PBMCs)或纯化的 CD4⁺ T 细胞体外共培养后,可以诱导 CD4⁺ T 细胞向 CD4⁺ Foxp3⁺ T 细胞分化^[36-39]。目前为止, MSCs 诱导 Tregs 产生的机制有: 1) 通过直接与 T 细胞接触,调控前列腺素 E2 (PGE-2) 和转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 的表达和分泌^[36-39]; 2) 分泌产生可溶性的非经典的 HLA I 类分子 HLA-G^[40]或者微囊^[41]; 3) 扩增的 Tregs 能有效抑制同种异体抗原特异性增殖^[37, 38]。

1.1.2.3 间充质干细胞与组织微环境

在骨骼形成、重构和再生时,血管生成是一个最基本的过程。在组织工程中,为了骨骼的再生促进新血管的形成是非常重要的。越来越多的数据证明,血管壁内储存了一些祖细胞,这些祖细胞在难以捉摸的 MSCs 和其他相关成人干细胞的起源中有着不可或缺的作用^[42-44]。MSCs 存在于内皮细胞微环境周围,并且可以与内皮细胞相互作用^[45-49]。研究发现,在骨生成过程中,全身的激素和旁分泌生长因子或细胞因子发挥积极的作用,并且发现在这个过程中 ECs 和成骨类细胞之间相互调控和作用。在骨复合材料移植物内共移入 ECs 不仅可以促进心血管的形成,还可以促进成骨类细胞和骨原细胞的成骨分化。与 HUVECs 共培养体系中,内皮细胞可以促进 BM-MSCs 增殖存活和成骨分化^[47, 50, 51]。在三维的类球体共培养体系所模拟的体内环境中, HUVECs 可以特定的诱导 MSCs 的成骨分化来维持 MSCs 的稳态和内环境,进而调控了 MSCs 的活性^[45, 46]。将人脂肪来源的 MSCs 与人内皮祖细胞共培养,不仅能形成新的血管,还能诱导 MSCs 细胞向脂肪细胞分化^[52]。将 BM-MSCs 细胞与视网膜上皮细胞共培养,还能检测到 BM-MSCs 向视网膜细胞分化^[53]。

由于 MSCs 在组织中的分布太少以及大量的临床需求限制了 MSCs 的临床应用^[54, 55],研究 MSCs 的自我更新及分化可能为临床 MSCs 治疗提供新的方法和策略。MSCs 的命运收到胞外可溶性因子、激素、细胞因子、化学因子以及外部机械力等多方面的影响^[56]。而另一方面,将 MSCs 与其他细胞共培养也能够影响 MSCs 的命运。Ball 及其团队发现^[57], MSCs 可以通过细胞间直接接触的方式被其他细胞调控,当内皮细胞与 MSCs 相互接触时,内皮细胞可以分泌 BMP2 诱导 MSCs 骨分化。Villars 及其团队发现^[58], MSCs 与 ECs 之间的相互调控不仅通过可溶性因子,缝隙连接蛋白 CX-43 在其中也发挥了关键作用,该作用基于细胞间接触。因此,内皮细胞与 MSCs 之间的调控作用机制可以归纳为两种:产生 VEGF、BMP2、IGF 为代表的旁分泌信号以及缝隙连接为代表的近分泌作用。

1.1.2.4 诱导多能干细胞来源的间充质干细胞

2006 年, Takahashi 和 Yamanaka 将 4 个转录因子 Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 导入成年小鼠的成纤维细胞内,进而获得了类似于胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)的多能性干细胞,命名为“诱导多潜能干细胞”(induced

pluripotent stem cells, iPSC)^[59]。由于相对于胚胎干细胞, iPS 细胞的产生不需要卵母细胞或早期胚胎细胞, 因此它不涉及胚胎毁损等伦理问题。iPS 细胞在表观遗传学、形态学以及细胞类型特异的分化潜能方面与 ES 细胞极其相似^[60], 并且个体特异来源的 iPS 细胞尚不涉及到免疫排斥问题, iPS 细胞有望成为细胞治疗以及组织器官再生最有前景的种子细胞。

利用 iPSC 的分化能力, 通过体外诱导, 可以使 iPSC 分化成为一种新的类似于 MSCs 的细胞, 称之为 iPS-MSCs。iPS-MSCs 作为一种新型的 MSCs, 在组织修复方面, 与 BM-MSCs 具有类似的功能。移植 iPS-MSCs 可以缓解肢体缺血、阿霉素心肌病, 改善小鼠模型中的肝功能。iPS-MSCs 的移植可以防止呼吸道炎症和诱导胰岛同种异体移植的免疫耐受。

除此以外, iPS-MSCs 在移植后有强大的免疫调节功能, 并且在免疫调节方面具有极大的优势。Giuliani 等发现, iPS-MSCs 与 NK 细胞共培养体系中, iPS-MSCs 可以显著地抑制 NK 细胞的功能, 并且较 BM-MSCs 对 NK 细胞具有更强的抑制作用^[61]。Sun 等报道, 在哮喘模型小鼠中, 移植等量的细胞后, iPS-MSCs 比 BM-MSCs 具有更强的免疫调节能力和免疫豁免能力, 可以更有效地抑制小鼠呼吸道过敏性炎症; IFN- γ 刺激后, iPS-MSCs 比 BM-MSCs 及 ES-MSCs 表达出更低的 HLA-II; 将 iPS-MSCs 移植入哮喘模型小鼠中, iPS-MSCs 组比 BM-MSCs 组恢复更好, 同时, iPS-MSCs 存活量更多^[62]。此外, iPS-MSCs 具有更高的端粒酶活性, 相比 BM-MSCs 具有不易老化的特点^[63], 同时, iPS-MSCs 促瘤性更低^[64]。因此, iPS-MSCs 可能是一个有前景的干细胞替代资源。

1.2 FAM3B 概述

1.2.1 FAM3 家族简介

FAM3 家族的 4 个基因分别表达 FAM3A、FAM3B、FAM3C 和 FAM3D 等 4 种不同的蛋白质, 由 224 到 235 个氨基酸组成, 各成员之间具有 31.6% 到 53.3% 的同源性, 但是与其他已知细胞因子均无同源性。FAM3 家族成员都含有信号肽及 4 个保守的半胱氨酸, 后者能形成两对二硫键。FAM3 家族的 4 个成员的氨基酸序列中都存在含有 2 个保守的甘氨酸残基的结构域(GG domain)。GG 结构域包

含 7 个 β 链和 2 个 α 螺旋, 约由 100 个氨基酸残基组成^[65]。Northern blot 实验结果表明, 人的 FAM3A 和 FAM3C 广泛表达于各种组织中。FAM3B 则在胰腺组织中有高水平表达, 在小肠和前列腺中也有少量表达。而 FAM3D 主要在胎盘中有高水平的表达, 在小肠中有少量表达。高糖状态下线粒体活性氧自由基 (ROS) 增多^[66]。在胰岛 β 细胞中, FAM3B 存在于储存胰岛素的囊泡里。当高糖或高钾时, 囊泡释放, 胰岛素 FAM3B 分泌到胞外^[67]。王欧美等发现, PI3K 和 ROS 参与葡萄糖诱导的 FAM3B 在胰岛 β 细胞中的表达^[68]。Song Qing 等发现, FAM3A 可以通过减少 ROS 积累和细胞凋亡的方式减少 H_2O_2 对神经元的损伤, 该作用依赖于 PI3K/AKT 信号通路。在神经元 HT22 细胞中, H_2O_2 刺激下调 FAM3A 在线粒体中的表达。FAM3A 过表达能够抑制 H_2O_2 诱导后的细胞活力以及乳酸脱氢酶 (LDH) 表达。同时, FAM3A 能够减少线粒体色素 C 的释放, 抑制 caspase-3 活性。FAM3A 过表达减少 H_2O_2 诱导的胞内 ROS 生成以及 ATP 生产损失, 最终抑制脂肪过氧化反应。此外, 过表达 FAM3A 促进 H_2O_2 诱导的 PI3K/AKT 活性, PI3K/AKT 抑制剂将一定程度上抑制 FAM3A 对 HT22 的保护^[69]。FAM3B 也具有调控细胞凋亡、细胞活力的功能。使用 RNAi 技术干扰 FAM3B, 促进 HCT8、HCT116、A549、N9、C2C12 以及 MIN6 等细胞凋亡, 抑制 HL-7702 及原代肝细胞活力^[70]。由于 FAM3A 与 FAM3B 在结构上的相似性, 因此 FAM3B 在拮抗 H_2O_2 诱导的损伤方面可能也发挥了重要的作用。

1.2.2 FAM3B 的生物学功能研究

1.2.2.1 FAM3B 调节胰岛细胞功能

由于 FAM3B 在胰岛细胞中高表达, 因此 FAM3B 可能参与了胰岛细胞功能的调控。用重组的 FAM3B 处理小鼠胰岛 β 细胞系 β -TC3 细胞, 可显著地抑制高糖作用下胰岛素的分泌^[65]。此外, 在 β -TC3 细胞中过表达 FAM3B, 可以抑制卡巴胆碱、葡萄糖或氯化钾等诱导的胰岛分泌^[71]。进一步研究发现, FAM3B 蛋白在胰岛 β 细胞中与胰岛素共分泌, 该过程依赖于 L 型钙离子内流。重组 FAM3B 除了抑制胰岛素分泌之外, 还可以诱导小鼠和人胰岛 β 细胞, 及 β -TC3 细胞的凋亡^[71]。棕榈酸刺激在促进 β 细胞凋亡的同时上调 FAM3B 的增加。敲减 FAM3B 可抑制软脂酸诱导的 β 细胞凋亡及 JNK 通路的激活^[67]。

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.